

Title	リン酸欠乏に応答した根毛伸長におけるシロイヌナズナのPIP5K遺伝子の機能解析(Abstract_要旨)
Author(s)	和田, 悠貴香
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2015-03-23
URL	http://dx.doi.org/10.14989/doctor.k18840
Right	許諾条件により本文は2015/05/31に公開
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

(続紙 1)

京都大学	博 士（理 学）	氏名	和田 悠貴香
論文題目	リン酸欠乏に応答した根毛伸長におけるシロイヌナズナの <i>PIP5K</i> 遺伝子の機能解析		
(論文内容の要旨)			
<p>本研究では、シロイヌナズナの<i>PIP5K3</i>および<i>PIP5K4</i>遺伝子がリン酸欠乏時の根毛細胞において転写因子PHR1により転写活性化され、それにより根毛伸長が促進されることを明らかにした。この結果、リン酸欠乏に応答する根毛伸長促進における情報伝達機構が解明された。</p> <p>リン酸は、植物にとって不可欠な無機栄養素の一つである。しかしながら、植物が利用できる形態のリン酸は土壌中において欠乏しやすいことが知られる。植物のリン酸欠乏応答で最も顕著なのは根系の形態の変化である。特に、根の表皮細胞から突出する根毛の発生および伸長が促進される。シロイヌナズナの根毛伸長は一細胞系での先端成長のモデルとして精力的に研究されてきた。ホスファチジルイノシトール-4,5-二リン酸を生成するホスファチジルイノシトール-4-リン酸 5-キナーゼ (<i>PIP5K</i>) の一つである<i>PIP5K3</i>は根毛伸長を正に制御する因子であることが明らかされている。</p> <p>高リン酸条件下とリン酸欠乏条件下の発芽後3日の植物の根における<i>PIP5K</i>遺伝子群の転写レベルを調べた結果、リン酸欠乏条件下において<i>PIP5K3</i>と<i>PIP5K4</i>の転写レベルが有意に上昇していた。両遺伝子のプロモーター領域にはリン酸欠乏応答に関与する転写因子であるPHR1の認識配列P1BSが存在していることから、両遺伝子はリン酸欠乏条件下でPHR1によって直接転写活性化される可能性が考えられた。<i>phrh1</i>変異体においては、リン酸欠乏による<i>PIP5K3</i>の転写レベルの上昇は一部抑制され、<i>PIP5K4</i>については有意な上昇はみられなかった。これらの結果から、PHR1はリン酸欠乏応答時に両遺伝子の転写を活性化することが強く示唆された。</p> <p>一方、発芽後3日の<i>pip5k3</i>変異体および<i>pip5k4</i>変異体では根毛伸長のリン酸欠乏応答性が低下し、<i>pip5k3pip5k4</i>二重変異体では応答性は完全に消失する。そこで、P1BSに変異を入れた改変遺伝子<i>pip5k3g^{mp}</i>と<i>pip5k4g^{mp}</i>を作製し、<i>pip5k3pip5k4</i>二重変異体に導入した。この二重部分相補体は高リン酸濃度条件下においては野生型と同様の根毛伸長を示すが、発芽後3日の幼苗期において根毛伸長のリン酸欠乏応答性を完全に消失していた。これらの結果により、シロイヌナズナの幼苗期においてリン酸欠乏シグナルは転写因子PHR1および<i>PIP5K</i>遺伝子を介して根毛伸長の促進へと伝えられることが証明された。</p> <p>これまでにゲノム配列が解読されている植物種の<i>PIP5K</i>遺伝子を調べたところ、アブラナ科植物では<i>PIP5K3</i>オルソログ遺伝子のプロモーター上でP1BSが完全に保存されていた。このことは、<i>PIP5K3</i>がアブラナ科植物のリン酸欠乏応答において重要な役割を担うことを示唆するものである。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本申請論文では、シロイヌナズナのホスファチジルイノシトール-4-リン酸 5-キナーゼ (PIP5K) 遺伝子がリン酸欠乏に応答し、根毛伸長の促進因子として働くことを遺伝学的手法および逆遺伝学的手法を用いて明らかにした。

リン酸は生物一般にとって不可欠な無機栄養素の一つであるが、土壌中には植物が吸収できる形態のリン酸の量は極めて少なく、野生の植物は恒常的にリン酸欠乏状態であると言っても過言ではない。そのため植物は土壌中のリン酸を効率的に吸収するために様々な戦略を発達させている。その一つは菌根菌との共生によって地中に伸びた菌糸体を介してリン酸を吸収する方法であり、多くの植物種はそれぞれに特有の共生菌根菌を有している。一方、低リン酸条件が植物生育の律速にならないような過酷な環境では菌根菌との共生は成立せず、植物は自らの根系を発達させてリン酸の吸収を図る。リン酸は土壌中では表層に多く存在し、拡散し難いことから、主根の伸長抑制、側根形成の促進、根毛の伸長促進などの形態変化がリン酸欠乏に応答して起こることが多い。モデル植物のシロイヌナズナにおいてもこれらのリン酸欠乏応答が起こるが、その中でも根毛伸長の促進は特に顕著な応答として知られている。これまでに、この根毛伸長のリン酸欠乏応答にはPHR1を含む幾つかの転写因子に関わることが報告されてきたが、リン酸欠乏は植物体全体の形態および代謝における激しい変化を引き起こすため、根毛伸長につながる情報伝達経路を辿ることは困難であった。そこで本申請論文では、リン酸欠乏培地上で発芽後3から5日のシロイヌナズナの幼苗を用いることにより、リン酸欠乏に対する植物体全体の応答が顕著になる前の段階での根毛伸長応答を解析した。

PIP5Kは脂質シグナル分子であるホスファチジルイノシトール-4, 5-二リン酸を生成する酵素であり、シロイヌナズナのPIP5K遺伝子の一つPIP5K3は根毛伸長の正の制御因子として知られている。本申請論文では、PIP5K3はパラログのPIP5K4とともにリン酸欠乏に応答し転写産物のレベルが上昇すること、また、それらの転写応答には転写因子をコードするPHR1遺伝子の機能が関与し、PIP5K3およびPIP5K4のプロモーター領域に存在するPHR1の認識配列P1BSが必要であることを見出した。一方、発芽後3日の*pip5k3*変異体および*pip5k4*変異体では根毛伸長のリン酸欠乏応答性が低下する。*pip5k3pip5k4*二重変異体では応答性は完全に消失するが、高リン酸濃度条件下においても根毛伸長は著しく抑制された。そこで、P1BSに変異を入れた改変遺伝子*pip5k3g^{mp}*と*pip5k4g^{mp}*を作製し、*pip5k3pip5k4*二重変異体に導入した。この二重部分相補体は高リン酸濃度条件下においては野生型と同様の根毛伸長を示すが、発芽後3日の幼苗期において根毛伸長のリン酸欠乏応答性を完全に消失していた。このことにより、シロイヌナズナの幼苗期においてリン酸欠乏シグナルは転写因子PHR1およびPIP5K遺伝子を介して根毛伸長の促進へと伝えられることが証明された。

この研究と時期を同じくして、シロイヌナズナのPHR1およびそのイネのオルソログによるリン酸欠乏応答機構が明らかにされた。それによると、PHR1はリン酸濃度センサータンパク質SPX1と結合することにより不活化され、低リン酸濃度下では

SPX1から解離することにより転写活性化因子として機能するようになる。これと本申請論文の結果を併せると、リン酸濃度の感知から根毛伸長促進の制御までの情報伝達経路が分子レベルで辿れることになる。また、根毛細胞のリン酸応答は細胞自律的に起こる現象であると言える。これら事実の解明は、植物のリン酸欠乏応答研究における長年の議論に結論を与えるものであり、植物の地中環境適応戦略を理解する上でも意義深いものである。さらに本申請論文では、*PIP5K3*遺伝子プロモーター中に存在するP1BSがアブラナ科全体で完全に保存されていることを見出している。シロイヌナズナを含むアブラナ科の植物は菌根菌などの共生菌類を持たないとされている。また、幼植物体期には根系全体が未発達であり、リン酸吸収における根毛の役割は重要である。これらのことは、アブラナ科植物では*PIP5K3*遺伝子を介した根毛伸長を幼植物体期におけるリン酸応答戦略として発達させていることを示唆しており、非常に興味深い。以上のように、本申請論文は植物環境応答の研究分野の進展に大きく寄与するものと考えられる。

よって、本申請論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成27年1月15日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降